

Politechnika Łódźka
Katedra Biotechnologii Środowiskowej

Łódź, 06.09.2023

Dr hab. inż. Joanna Bertowska, prof. uczelni
Katedra Biotechnologii Środowiskowej
Politechnika Łódźka

Recenzja Rozprawy doktorskiej
mgr inż. Mateusza Jackowskiego

pt. „Produkcja piwa o obniżonej zawartości alkoholu”
wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Anny Trustek
na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej

Recenzja wykonana jest w ramach postępowania toczącego się w dziedzinie nauk inżyniersko - technicznych w dyscyplinie inżynieria chemiczna, a podstawą do jej sporządzenia jest powołanie na recenzenta przez Radę Dyscypliny Naukowej Inżynieria Chemiczna Politechniki Wrocławskiej (Uchwała nr 321/40/RDND05/202102024 z dnia 5 lipca 2023 r.)

Rozprawa doktorska Pana mgr inż. Mateusza Jackowskiego stanowi przegląd metod produkcji piwa bezalkoholowego oraz piwa o obniżonej zawartości alkoholu. Przeglądu tego dokonano zarówno w części teoretycznej przytaczając szczegółowo dane literaturowe jak i w części praktycznej poprzez wykonanie 14 napojów fermentowanych oraz jednego substytutu piwa bezalkoholowego. Dobór tematyki pracy wydaje się bardzo słuszny i został bardzo dobrze uargumentowany. Przesłanki dotyczące wielkości rynku oraz zmiennych oczekiwań konsumentów przedstawiono w podrozdziałach 2, 4 i 6 „Przeglądu Piśmiennictwa” oraz we „Wstępie”. Na uwagę zasługuje fakt, iż w przedstawionej do oceny pracy rozważane są w przeważającej części aspekty technologiczne, co sprawia, że dysertacja ma wyraźnie zarysowany charakter aplikacyjny oraz dobrze wpisuje się w obszary badawcze dyscypliny inżynieria chemiczna. Opracowania, dla których wybór tematyki podyktowany jest uwarunkowaniami rynkowymi, porządkujące wiedzę w zakresie istniejących rozwiązań oraz prezentujące nowatorskie podejście uważam za bardzo cenne. Szczególnie, że mogą się one stać przyczynkiem do pogłębienia i rozwijania współpracy świata nauki i biznesu.



STRUKTURA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Przedstawiona do recenzji praca doktorska liczy 149 stron. Rozprawa doktorska ma następujący układ redakcyjny: strona tytułowa, strona z podziękowaniami, Spis treści, Wstęp (str. 3-4), Przegląd Piśmiennictwa (str. 5-60), Cel pracy (str. 61-62), Materiały i metodyka (str. 63-80), Wyniki (str. 81-120), Podsumowanie i wnioski (str. 121-124), Spis oznaczeń, Spis ilustracji, Spis tabel, Literatura (str. 129-145) oraz Materiały dodatkowe. Struktura redakcyjna rozprawy jest przejrzysta i prawidłowa. Wyniki badań przedstawiono na 39 rysunkach oraz w 12 tabelach. Bibliografia licząca 254 pozycje anglojęzycznych oraz 46 polskojęzycznych obejmuje w większości artykuły naukowe opublikowane w latach 1986-2022. Przegląd literatury jest bogaty i różnorodny. W przedstawione dysertacji obok artykułów publikowanych w czasopismach z listy JCR cytowane są książki, podręczniki akademickie, popularne źródła z dostępem online (w ilości 9), doniesienia konferencyjne (w ilości 4) oraz akty prawne (w ilości 4). Na liście odnalazłam również 8 pozycji współautorstwa Pana Magistra inż. Mateusza Jackowskiego, co według mnie potwierdza aktywność naukową Doktoranta.

Rozprawa jest generalnie starannie przygotowana, aczkolwiek chciałam zwrócić uwagę na kilka niedociągnięć i nieprecyzyjnych wypowiedzi. Niektóre z nich wymieniam poniżej:

- na stronie 61 jako dodatkowy cel Doktorant wskazuje porównanie walorów otrzymanych produktów takich jak barwa, goryczka, ekstrakt, zawartość alfa-kwasów oraz izo-alfa kwasów oraz w przypadku dealkoholizacji oznaczenia wybranych związków lotnych współodpowiedzialnych za aromat gotowego. Wymienione parametry nie były oznaczane we wszystkich analizowanych produktach. Na przykład barwę i goryczkę oznaczono dla substytutu piwa oraz piw dealkoholizowanych;
- na stronie 68 podana jest informacja o stosowanej dawce drożdży dolnej fermentacji podczas gdy przywołany preparat Fermentis WB-06 zawierający drożdże fermentacji górnej;
- na stronie 71 podano informację o wprowadzeniu zarodników do medium hodowlanego. Przypuszczam, że przypadku drożdży materiał inokulacyjny był inny;
- na stronie 91 doktorant przywołuje wartości ekstraktu używając stopnia Błg powołując się na wykres, na którym na osi znajduje się skala Brix;



Politechnika Łódźka

Katedra Biotechnologii Środowiskowej

- na stronie 98 podana jest informacja o metabolizowaniu sacharozy przez zastosowany szczep drożdży- chciałabym zapytać skąd takie przypuszczenie;
- na stronie 100 przywołane są dane z piątego dnia hodowli podczas, gdy na wykresie nie wskazano takiego dnia pomiarowego
- na stronie 112 podana jest informacja o braku izo-alfa-kwasów w destylacie. Dane takie nie zostały przedstawione w Tabeli 21.

ZAWARTOŚĆ MERYTORYCZNA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Przechodząc do oceny zawartości merytorycznej dysertacji, stwierdzam, że w pierwszych rozdziałach pracy dokonano szerokiego przeglądu literatury. Na początku zreferowano historię rozwoju piwowarstwa. Duży nacisk położono na uwarunkowania kulturowe oraz postęp technologiczny warunkujący zmiany sposobu otrzymywania piwa. Następnie scharakteryzowano podstawowe surowce stosowane w browarnictwie oraz kolejne etapy procesu technologicznego. W dalszej części opisano specyfikę rynku piwa w Polsce, w Europie i na świecie wymieniając kluczowych graczy oraz wskazując zmiany w ilości działających browarów, wielkości produkcji, sprzedaży i spożycia piwa. W kolejnym podrozdziale opisano aspekty zdrowotne spożywania piwa, przy czym scharakteryzowano związki korzystnie wpływające na zdrowie konsumentów głównie witaminy i polifenole oraz etanol wykazujący działanie toksyczne. Kolejne rozdziały wstępu teoretycznego poświęcono metodom otrzymywania i wymaganiom stawianym piwom bezalkoholowym uwzględniając w szczególności właściwe obostrzenia prawne. Przetawione metody produkcji piw bezalkoholowych podzielono na dwie grupy: metody biologiczne oraz metody fizyczne. Analogiczny podział stosowano przy prezentacji wyników odpowiednio w rozdziałach: 5.1 „Metody biologiczne zmniejszające ilość alkoholu w piwie” oraz 5.2 „Procesy separacji etanolu z piwa”.

Cel podjętych działań sformułowano jako „porównanie, sklasyfikowanie oraz optymalizacja powszechnie stosowanych oraz nowatorskich technologii produkcji piwa o obniżonej zawartości alkoholu”. Pięcioetapowy schemat pracy przedstawiono w Tabeli nr 12. Według tego schematu praca obejmowała: analizę dostępnych technologii, opracowanie metodyki analizy walorów konsumenckich piwa, optymalizację procesów otrzymywania piwa oraz napojów piwopodobnych, aplikację metodyki na wybranych technologiach dealkoholizacji piwa, ocenę przydatności oraz



Politechnika Łódzka

Katedra Biotechnologii Środowiskowej

efektywności danej techniki. Dla każdego z etapów zdefiniowano zakres prac lub cele szczegółowe, co jest według mnie bardzo dobrą praktyką.

W opisie Doktorant wskazuje, iż wykonano wstępną analizę rynku oraz przygotowano wstępny plan komercjalizacji wybranych metod tj. przerwanej fermentacji, metody zimnego kontaktu fermentacji z wykorzystaniem szczepów *Saccharomyces ludwigii* oraz *Monascus ruber*, destylacji próżniowej, destylacji z deflegmacją oraz metod membranowych. Rozumiem, że pierwszą część zrealizowano poprzez przygotowanie podrozdziału drugiego Przeglądu Piśmiennictwa zatytułowanego „Piwo w Polsce i na świecie”. Wskazówki dotyczące uwarunkowań praktycznego zastosowania omawianych metod znalazły się natomiast w przedostatnim akapicie „Podsumowania i wniosków”. Mam wątpliwości czy ten fragment można nazwać „planem komercjalizacji”. Osiągnięcie celów szczegółowych dla punktu 3 schematu zakłada natomiast m.in. przeprowadzenie optymalizacji 4 procesów: procesu przerwanej fermentacji w celu produkcji piwa o obniżonej zawartości alkoholu; procesu zacierania w celu zmniejszenia ilości cukrów fermentowanych, procesu fermentacji brzezki piwnej prowadzonej przez szczepy *Saccharomyces ludwigii* oraz *Monascus ruber* oraz procesu destylacji z deflegmacją prowadzonych w celu dealkoholizacji piwa. Tutaj moje wątpliwości budzi fakt użycia terminu „optymalizacja” i jego rozumienie. Optymalizowanie procesu to poszukiwanie najlepszego rozwiązania związane zazwyczaj z testowaniem różnych warunków lub różnych wartości wybranego parametru. W przypadku fermentacji przerywanej zbadano tylko jeden wariant procesowy, kiedy to pobrano próby do analiz po osiągnięciu zawartości alkoholu etylowego wartości 0,5 %. Podobnie przy zmianie reżimu zacierania testowano jedynie jeden wariant odmienny od tradycyjnego. Eksperyment ten uwzględniał w prawdzie zastosowanie różnych szczepów drożdży, jednak ten fakt pozwala wyciągnąć wnioski dotyczące zafermentowania jednego typu brzezki o zmienionym składzie. W pełni znamiona optymalizacji wyczerpuje natomiast eksperyment, w którym stosowano technikę kofermentacji *S. cerevisiae* i *L. brevis* w 13 wariatach badawczych przy 3 zmiennych parametrach procesowych. Do opracowania wyników tej części badawczej zastosowano ponadto metodę Boxa Benkhena obrazując płaszczyznę odpowiedzi produktywności etanolu w zależności od zmiennych zawartości ekstraktu, goryczy oraz sposobu inokulacji.



Politechnika Łódzka

Katedra Biotechnologii Środowiskowej

W rozdziale „Materiały i metodyka” opisano zastosowane: materiały (odczynniki chemiczne, surowce browarnicze, mikroorganizmy), aparaturę, w tym instalację browarniczą znajdującą się na Politechnice Wrocławskiej, metody produkcji brzezki, metody fermentacji brzezki, metody produkcji piwa bezalkoholowego, metody dealkoholizacji piwa oraz sposób produkcji niefermentowanego substytutu piwa, a także stosowane metody analityczne oraz testy organoleptyczne. Rozdział ten zawiera szczegółowe opisy postępowania oraz schematy eksperymentów, które oceniam za bardzo pomocne. W mojej opinii korzystne z punktu widzenia czytelnika byłoby również uwzględnienie szczegółów dotyczących wykonanych obliczeń statystycznych (w opisie przytaczane są wartości wyznaczone eksperymentalnie w formie sugerującym podawanie odchyłań standardowych – zastosowanie znaku „+/-”) oraz wyodrębnienie opisu sposobów hodowli stosowanych drobnoustrojów, a szczególności przygotowania zawiesin inokulacyjnych i ich dawek procentowych. Na stronach 70 i 72 Doktorant podaje informację, że brzezkę rozlewało do 5 litrowych kolb, a podłoże szczepiono 10 ml hodowli. Wobec braku informacji o objętości stosowanej podczas fermentacji brzezki nie można ustalić poziomu inokulacji, który ma duże znaczenia dla przebiegu procesu. Podobnie w przypadku opisu produkcji piwa bezalkoholowego metodą przerywanej fermentacji: podana została naważka drożdży natomiast brak jest informacji o objętości fermentowanej brzezki. Szczegółów dot. inokulacji brak jest również dla eksperymentów dotyczących kofermentacji brzeczek przygotowywanych na bazie płynnego ekstraktu słodowego.

Na kolejny rozdział dysertacji składa się tekst zawierający prezentację, omówienie i dyskusję wyników. Doktorant podjął się zadania scharakteryzowania przebiegu procesów otrzymywania piwa o obniżonej zawartości etanolu stosując zróżnicowany zestaw analiz, którego stałym elementem były testy organoleptyczne oraz oznaczenia zawartości alkoholu etylowego oraz substancji ekstraktywnych. W tym miejscu chciałbym podkreślić, że według mnie termin ekstrakt jest bardziej właściwy niż określenie stosowane w wielu miejscach w pracy tj. „zawartość cukrów”. Zarówno w opisie jak i na wykresach doktorant używa terminu „zawartość cukrów” dla wartości wyrażanych w stopniach Brix. Rzeczywiście znakomitą większość związków ekstraktywnych brzezki stanowią cukry. Na ekstrakt składają się jednak również, białka, kwasy organiczne, barwniki czy garbniki. Zawartości mono-, di- i oligosacharydów a także niecukrów w beczce zależne są od warunków zacierania i mogą ulegać istotnym fluktuacjom przy zmianie jego

90-924 Łódź, ul. Wólczańska 171/173

tel. (+48 42) 42 631 34 92

e-mail: w5k51@adm.p.lodz.pl, www.p.lodz.pl



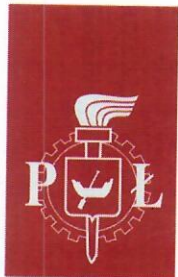
Politechnika Łódzka

Katedra Biotechnologii Środowiskowej

warunków, o czym Doktorant wspomina również w dysertacji. W rozdziale metodycznym nie znalazłam ponadto szczegółów dotyczących oznaczania zawartości cukrów czy też ekstraktu pozornego (prezentowanego m.in., w tabeli 17) wyrażanego w stopniach Ballinga, a także ekstraktu początkowego i końcowego, choć na te wartości powołuje się metodyka obliczania stopnia odfermentowania.

Dla wybranych procesów oznaczano między innymi stężenia: kwasu ferulowego i 4-winylogwakakolu, kwasu mlekowego, polifenoli, alfa-kasów, izo-alfa-kasów, maltolu, izobunanolu, alkoholu fenyloetylowego, mleczanu etylu, barwę czy goryczkę. W opisie nie zawsze jednak znajdowało się uzasadnienie dla doboru analizowanych i ocenianych parametrów, co byłoby interesujące dla czytelnika.

Kolejne podrozdziały części zatytułowanej „Wyniki” poświęcone są odrębnym eksperymentom mającym na celu otrzymanie napoju o założonych parametrach. Uważam, że wyniki badań zostały opisane wystarczająco, a bogaty materiał ilustracyjny znacznie ułatwia analizę danych doświadczalnych. Niewątpliwym walorem jest przejrzystość opisu, co przy tak rozbudowanej pracy nie jest łatwe. Podkreślić należy fakt ich dużej różnorodności. Doktorant prowadził bowiem procesy otrzymywania zarówno piw dolnej jak i górnej fermentacji, przy udziale zróżnicowanego materiału biologicznego. Obok 6 szczepów wykorzystywanych w klasycznych rozwiązaniach stosowano ponadto *Saccharomyces ludwigii*, a także grzyby strzępkowe *Monascus ruber* oraz bakterie fermentacji mlekowej *Lactobacillus brevis*. Do procesów fermentacyjnych stosowano brzezki otrzymane przy udziale słodu pilzneńskiego oraz mieszanek słodu pilzneńskiego i słodu monachijskiego, słodu pilzneńskiego i pszenicznego, a także słodu pilzneńskiego oraz jęczmienia niesłodowanego. Dla pięciu procesów zróżnicowane były ponadto warunki zacierania. I tu mam drobną uwagę: w przypadku procesu, opisywanego w rozdziale 5.1.6 informacja o zmienionym reżimie zacierania podana jest dopiero w ostatnim akapicie. Według mnie fakt ten mogłyby zostać zaznaczony już w opisie metodycznym.



PODSUMOWANIE

Pan Mateusz Jackowski założone cele konsekwentnie realizował poprzez zaplanowanie i przeprowadzenie szerokiego zakresu eksperymentów. O skali i różnorodności badań świadczy rozbudowany rozdział metodyczny, w którym odnalazłam niewielkie uchybienia. Na podkreślenie zasługuje również fakt, że Doktorant wykazał, niezbędną w badaniach naukowych, umiejętność analizy wyników. Badania mają również wysoką wartość aplikacyjną, dostarczając wartościowej wiedzy i gotowych rozwiązań. Na potrzeby pracy wykonywano bowiem próby w skali ułamkowo-technicznej otrzymując nawet do 100l brzeczki. Ogólny praktyczny cel działań jest więc mocno zarysowany. Wyniki badań własnych zostały przedstawione na tle przytaczanych danych literatury światowej, stanowiąc uzupełnienie wiedzy w obszarze tematycznym rozprawy i właściwie podsumowując rezultaty eksperymentów. Tekst został dobrze przygotowany pod względem edytorskim, a drobne błędy literowe i stylistyczne, które odnotowałam, nie wpływają na wartość naukową rozprawy.

Na podkreślenie zasługuje wieloaspektowe podejście do tematu oraz szeroki warsztat badawczy. Przeprowadzenie eksperymentów wymagało znajomości przez Doktorantka zarówno standardowych technik analiz fizyko-chemicznych, testów organoleptycznych a także umiejętności posługiwania się zaawansowanymi technikami instrumentalnej analizy chemicznej oraz pracy z zachowaniem standardów charakterystycznych dla pracy w laboratorium mikrobiologicznym.

Zamieszczone w tekście recenzji moje uwagi i sugestie nie umniejszają wartości pracy doktorskiej, choć chciałabym aby Doktorant odniósł się do moich komentarzy dotyczących:

- stosowania terminów komercjalizacja, optymalizacja i ekstrakt (jak Doktorant rozumie te pojęcia i jakim znaczeniu je zastosował?),
- szczegółów dotyczących inokulacji brzeczki (czy preparaty handlowe były rehydratowane?, czy zawiesiny hodowlane były standaryzowane?),
- metodologii zacierania (czym kierował się Doktorant dobierając metodologię zacierania?),



Politechnika Łódźka

Katedra Biotechnologii Środowiskowej

- zakresu oznaczeń analitycznych wykonywanych w celu oceny przebiegu prowadzonych procesów otrzymywania produktów o obniżonej zawartości alkoholu (czym kierował się Doktorant dobierając zestaw oznaczanych parametrów?).

Podsumowując stwierdzam, że będąca przedmiotem oceny rozprawa spełnia wymagania ustawowe (Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce) stawiane rozprawom doktorskim i przedkładam Radzie Dyscypliny Naukowej Inżynieria Chemiczna Politechniki Wrocławskiej wnioski o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr inż. Mateusza Jackowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.